

# 我国尖音库蚊复合组蚊虫的杂交及其与 *Wolbachia* 感染的关系

宋社吾, 赵彤言, 董言德, 陆宝麟

(军事医学科学院微生物流行病学研究所, 北京 100071)

**摘要:** 为了了解我国尖音库蚊复合组蚊虫间杂交卵的不孵化现象和明确该现象与共生微生物 *Wolbachia* 感染的关系, 对该复合组实验室种群 4 个亚种进行了笼内杂交和抗生素处理后的杂交。试验表明: 在复合组蚊虫中骚扰库蚊 *Culex pipiens molestus* 与淡色库蚊 *Cx. pipiens pallens*、致倦库蚊 *Cx. pipiens quinquefasciatus* 与尖音库蚊 *Cx. pipiens pipiens* 之间存在有单向胞质不融合现象, 骚扰库蚊的雄虫与尖音库蚊、致倦库蚊和淡色库蚊的雌虫杂交卵的孵化率分别为 0.06%、0.46% 和 0.19%; 该胞质不融合现象可以通过抗生素处理而消除, 处理后骚扰库蚊雄虫与其余 3 个亚种雌虫  $F_3$  杂交卵的孵化率均有提高, 分别为 89.49% ( $t = 3.90 \times 10^{-28} < t_{0.01} = 2.704$ )、23.39% ( $t = 9.15 \times 10^{-7} < t_{0.01} = 2.660$ ) 和 22.27% ( $t = 5.08 \times 10^{-4} < t_{0.01} = 2.750$ ), 并可因抗生素处理而产生新的不融合类型。

**关键词:** 尖音库蚊复合组; 杂交; 胞质不融合; *Wolbachia*

中图分类号: R18 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296 (2002) 06-0705-06

## Hybridization and *Wolbachia* infection in the *Culex pipiens* complex in China

SONG She-Wu, ZHAO Tong-Yan, DONG Yan-De, LU Bao-Lin (Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

**Abstract:** In order to understand the inviability of hybrid  $F_1$  eggs and the relationship of this to *Wolbachia* infection in the *Culex pipiens* complex in China, the crossing experiments of 4 subspecies of the complex without and with tetracycline treatment were performed. The results revealed there was unidirectional cytoplasmic incompatibility (CI) between *Cx. pipiens molestus* males and females of the other 3 subspecies in the complex without tetracycline treatment, and the hatching rates of eggs from matings between the males of *Cx. pipiens molestus* and the females of *Cx. pipiens pipiens*, *Cx. pipiens quinquefasciatus* and *Cx. pipiens pallens* were 0.06%, 0.46% and 0.19%, respectively. Treatment with tetracycline resulted in the elimination of CI.  $F_3$  hatching rates after tetracycline treatment between the males of *Cx. pipiens molestus* and the females of *Cx. pipiens pipiens*, *Cx. pipiens quinquefasciatus* and *Cx. pipiens pallens* were 89.49% ( $t = 3.90 \times 10^{-28} < t_{0.01} = 2.704$ ), 23.39% ( $t = 9.15 \times 10^{-7} < t_{0.01} = 2.660$ ) and 22.27% ( $t = 5.08 \times 10^{-4} < t_{0.01} = 2.750$ ), respectively. However, treatment with tetracycline resulted in the occurrence of new kinds of CI.

**Key words:** *Culex pipiens* complex; hybridization; cytoplasmic incompatibility; *Wolbachia*

尖音库蚊复合组 (*Culex pipiens* complex) 属于库蚊属库蚊亚属, 该种全球分布。一般认为该复合组包括尖音库蚊 *Cx. pipiens pipiens*、致倦库蚊 *Cx. pipiens quinquefasciatus*、淡色库蚊 *Cx. pipiens pallens* 和骚扰库蚊 *Cx. pipiens molestus* (Knight and Stone, 1977; Knight, 1978), 上述 4 亚种在我国均有分布 (赵彤言和陆宝麟, 1993)。其中典型的尖音库蚊仅分布于新疆, 淡色库蚊分布于我国的北方地区, 致

倦库蚊分布于我国的南方地区及南方岛屿 (如台湾岛和海南岛), 骚扰库蚊在北京、沈阳地区有发现。并且尖音库蚊与淡色库蚊、致倦库蚊与淡色库蚊 ( $N32^\circ \sim N34^\circ$ ) 之间有重叠分布区。本复合组种类不仅分布广, 而且具有很大医学重要性。20 世纪 50 年代, Laven 等 (1951) 发现在库蚊属中有一定的种间杂交胞质不融合 (cytoplasmic incompatibility, CI) 现象, 它们很少产生或没有后代。70 年代,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770674)

作者简介: 宋社吾, 男, 1965 年 4 月生, 博士。现工作单位: 安徽省生物研究所, E-mail: songshewu@163.net

收稿日期 Received: 2001-01-22; 接受日期 Accepted: 2002-02-10

Yen 和 Barr 等认为, 库蚊属的 CI 现象与立克次体样微生物 *Wolbachia* 的存在有关, 而 *Wolbachia* 可以通过抗生素的治疗而被消灭 (Yen and Barr, 1971; Barr, 1980)。 *Wolbachia* 诱导的 CI 现象是一种在精子和卵子之间的生殖不融合, 杂交后代在胚胎期死亡。通常为感染的雄虫与未感染的雌虫之间或雌雄虫感染了不同的 *Wolbachia* 株表现为 CI (Werren, 1997)。在其后的 25 年间, 新的胞质不融合例子在许多种昆虫的范围内被发现 (龚鹏等, 2002)。特别是在尖音库蚊复合组中 CI 出现的频率明显高于其它宿主中 (Guillemaud *et al.*, 1997)。同时试验表明通过微量注射等方法可以在宿主间转移 *Wolbachia* 诱导产生新的不融合类型 (Boyle *et al.*, 1993; Giordano *et al.*, 1995; Sinkins *et al.*, 1995)。 *Wolbachia* 近来引起昆虫学和媒介生物学界的广泛关注, 是由于其可能与重要的进化过程有关以及在媒介生物的遗传防治等应用领域的前景 (Werren, 1997)。赵彤言等 (1998) 通过杂交初步发现我国骚扰库蚊与尖音库蚊、淡色库蚊及致倦库蚊之间存在有杂交的子一代卵不孵化现象。但它们之间是否是胞质不融合现象以及与 *Wolbachia* 感染的关系等有进一步研究的必要。

## 1 材料与方法

### 1.1 蚊虫及来源

尖音库蚊复合组 4 个实验室种群, 包括淡色库蚊北京株 (北纬 39.8°, 东经 116.2°)、致倦库蚊广州株 (北纬 23.1°, 东经 113.2°)、尖音库蚊乌鲁木齐株 (北纬 43.8°, 东经 87.6°) 和骚扰库蚊北京株, 以上 4 个实验室种群由军事医学科学院微生物流行病研究所媒介生物学及防治研究室养殖。

### 1.2 杂交实验方法

种群群体杂交实验采用笼内 (30 cm × 30 cm × 40 cm) 自然杂交。杂交雌雄蚊的比值为 1:1, 杂交组蚊虫与亲本蚊虫饲养条件相同 (温度 25 ± 1℃, 光照 14L:10D, RH 70% ~ 80%), 成蚊饲喂 5% 的蔗糖水。杂交配对后第 3 天, 用小白鼠喂血过夜。收集所产下的卵块, 镜下检查记录卵块数、卵数、孵化卵数和未孵化卵数, 分别计算相应的孵化率。孵化卵为孵化的卵壳, 未孵化的卵包括有停止在胚胎发育后期 (可见眼斑) 和在胚胎发育早期 (均质牛奶状)。未受精卵块 (100% 不孵化, 都呈均质牛奶状且无胚胎发育迹象) 不计在内 (O'Neill and

Paterson, 1992)。

去除 *Wolbachia* 感染的杂交实验采用抗生素处理。将复合组 4 个亚种的实验室种群初孵幼虫饲养于含有 0.2 mg/L 四环素的水中 (Guillemaud *et al.*, 1997), 直至化蛹后杂交配对。单对杂交实验采用圆桶内杂交, 将雌、雄蚊虫单对放入圆桶 (直径 10 cm, 高 20 cm) 内。后期饲养和检查方法同上。

### 1.3 PCR 检测父母本中 *Wolbachia* 感染的方法

群体杂交和去除 *Wolbachia* 感染的杂交实验, 在收卵后分雌雄分别提取 DNA, 根据 Zhou 等 (1998) 建立的依据 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列的 PCR 检测方法进行 *Wolbachia* 感染的检测。采用一对通用引物 81F 和 691R, 可以从所有已知的 *Wolbachia* 株中扩增出 590 ~ 632 bp 左右的目的片段 (Zhou *et al.*, 1998; 宋社吾等, 2000)。父母本分别随机检测 20 ~ 40 个个体。单对杂交实验在收卵后, 也分父母本提取 DNA 和进行 *Wolbachia* 感染的 PCR 检测。

## 2 结果

### 2.1 我国尖音库蚊复合组 4 个亚种实验室种群的杂交结果

我国尖音库蚊复合组的 4 个亚种实验室种群两两杂交的结果表明, 骚扰库蚊与其余的 3 个亚种杂交存在有单向的胞质不融合现象。骚扰库蚊的雄虫与尖音库蚊、致倦库蚊和淡色库蚊的雌虫杂交卵的孵化率分别为 0.06%、0.46% 和 0.19%。在其余杂交组合中, 除了骚扰库蚊的雌虫与致倦库蚊的雄虫杂交卵的孵化率稍低为 74.36% 外, 其他组合无论是正交还是反交, 孵化率均在 87.60% 以上 (表 1)。

在所有融合的杂交组合中, 大多数卵孵化率在 80% 以上; 而所有不融合的杂交组合中, 全部孵化卵块的孵化率都不超过 10%。在随后的 PCR 检测中, 所有杂交组合的父母本均呈阳性反应。使用 *Wolbachia* 通用引物 81F 和 691R, 能够从我国尖音库蚊复合组 4 个亚种的实验室种群中扩增出 600 bp 左右的目的片段 (图 1)。表明在上述蚊虫种群内存在有 *Wolbachia* 的感染。

### 2.2 我国尖音库蚊复合组 4 个亚种实验室种群经抗生素处理后的杂交结果

四环素处理后第 2 代的杂交结果表明, 骚扰库蚊雄虫与尖音库蚊、致倦库蚊雌虫杂交卵的孵化率已有明显提高。与致倦库蚊雌虫杂交卵的孵化率由

原来的 0.46% 提高到 23.96% ( $t = 5.14 \times 10^{-4} < t_{0.01} = 2.660$ ), 与尖音库蚊雌虫杂交卵的孵化率由原来的 0.06% 提高到 82.68% ( $t = 3.18 \times 10^{-15} < t_{0.01} = 2.704$ ) (表 2)。卵孵化率的分布统计表明, 骚扰库蚊雄虫与尖音库蚊雌虫的杂交组合中, 超过 70% 的卵块的孵化率超过了 80%, 另有少数的卵

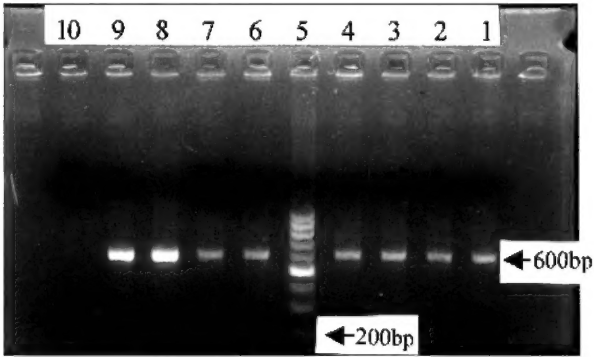
块的孵化率较低。而在骚扰库蚊雄虫与致倦库蚊雌虫的杂交组合中, 有一半的卵块孵化率不到 10%, 少数卵块的孵化率较高。在后期的 PCR 检测中, 仍然可以从杂交的父母本提取的 DNA 中扩增出 600 bp 左右的目的片段。表明在父母本种群中仍然存在有 *Wolbachia* 感染。

表 1 我国尖音库蚊复合组 4 个亚种实验室种群的杂交结果

Table 1 Hybridization among the 4 subspecies of the *Cx. pipiens* complex

杂交组 ♀ × ♂	配对数 Number of pairs	产卵蚊数 Number of mosquitoes that oviposited	产卵数 Number of eggs	平均产卵数 Mean number of eggs per female	孵化卵数 Number of eggs hatched	未孵化卵数 Number of eggs unhatched	孵化率 (%) Hatching rate
pi × qu	50	35	5 862	167.49	5 659	203	96.54
qu × pi	60	38	6 244	164.32	5 769	475	92.39
pi × pa	60	38	9 200	242.11	8 663	537	94.16
pa × pi	50	20	3 829	191.45	3 682	147	96.16
pi × mo	60	50	10 808	216.16	7	10 801	0.06
mo × pi	60	23	1 503	65.35	1 377	126	91.62
qu × pa	60	33	5 486	166.24	4 989	497	90.94
pa × qu	60	43	8 735	203.14	7 889	846	90.31
qu × mo	65	55	10 170	184.91	47	10 123	0.46
mo × qu	90	38	2 504	65.89	1 862	642	74.36
pa × mo	60	35	6 864	196.11	13	6 851	0.19
mo × pa	60	26	1 113	42.81	975	138	87.60
pi × pa	90	68	11 656	171.41	10 373	1 283	88.99
pa × pi	90	36	6 356	176.56	5 901	455	92.84

pi: 尖音库蚊 *Cx. pipiens pipiens*; pa: 淡色库蚊 *Cx. pipiens pallens*; mo: 骚扰库蚊 *Cx. pipiens molestus*; qu: 致倦库蚊 *Cx. pipiens quinquefasciatus*.  
表 2 同 The same for Table 2



处理后的第 3 代杂交试验中, 骚扰库蚊雄虫与其余 3 个亚种雌虫杂交卵的孵化率都有提高。其中仍以与尖音库蚊雌虫杂交组合提高的最多, 达到 89.49% ( $t = 3.90 \times 10^{-28} < t_{0.01} = 2.704$ )。而与致倦库蚊、淡色库蚊雌虫杂交组合卵的孵化率也由原来的 0.46% 和 0.19% 分别提高到 23.39% ( $t = 9.15 \times 10^{-7} < t_{0.01} = 2.660$ ) 和 22.27% ( $t = 5.08 \times 10^{-4} < t_{0.01} = 2.750$ )。在杂交的反交试验中, 骚扰库蚊雌虫与其余 3 个亚种雄虫杂交卵的孵化率则均有不同程度的降低 (表 2)。在卵的孵化率分布中, 尖音库蚊雌虫与骚扰库蚊雄虫的杂交组合有超过 90% 的卵孵化率大于 80%, 仅部分卵的孵化率较低。而致倦库蚊、淡色库蚊的雌虫与骚扰库蚊雄虫的杂交组合仍是几乎一半的卵孵化率不到 10%, 少数卵的孵化率较高。杂交的反交试验中, 骚扰库蚊雌虫与致倦库蚊、淡色库蚊雄虫的杂交组合中, 有少部分卵的孵化率不超过 10%。在随后的 PCR 检测中, 所有杂交组合父母本也均能检测到 *Wolbachia* 的感染。

图 1 尖音库蚊复合组 4 个亚种中 81F 和 691R 引物特异 DNA 片段 PCR 产物电泳图  
Fig. 1 Electrophoresis of PCR products obtained by amplification of DNA extracted from 4 subspecies of the *Cx. pipiens* complex with 81F and 691R primers  
1, 6: 尖音库蚊 (*Cx. pipiens pipiens*) ♀♂; 2, 7: 淡色库蚊 (*Cx. pipiens pallens*) ♀♂; 3, 8: 骚扰库蚊 (*Cx. pipiens molestus*) ♀♂; 4, 9: 致倦库蚊 (*Cx. pipiens quinquefasciatus*) ♀♂; 5: DNA 分子量标准 (molecular size standards); 10: 空白 (水) 对照 (no DNA control)

处理后的第 3 代与未经四环素处理的杂交试验, 4 个亚种无论是正交组合还是反交组合, 都没有出现完全的胞质不融合现象。但是它们的孵化率相对于正常的自交孵化率来说较低, 另外值得注意的是尖音库蚊的处理雄虫与未处理雌虫杂交卵的孵化率只有 5.68% (表 3)。卵的孵化率分布统计表明 4 个亚种处理的雌虫与未处理的雄虫回交, 有一半多的卵的孵化率超过了 80%。但在致倦库蚊、

淡色库蚊和尖音库蚊的处理的雌虫与未处理的雄虫回交中出现了个别或少数卵的孵化率很低的现象。同时, 致倦库蚊、淡色库蚊和骚扰库蚊未处理的雌虫与处理的雄虫杂交, 大多数卵的孵化率都较高。而尖音库蚊未处理的雌虫与处理的雄虫杂交, 大多数卵的孵化率却都不超过 10%。在随后的 PCR 检测中, 所有组合的父母本都呈阳性反应。

表 2 我国尖音库蚊复合组 4 个亚种实验室种群经四环素处理后第 2、3 代的杂交结果

Table 2 Hybridization among F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> of the 4 subspecies of <i>Cx. pipiens</i> complex after treatment with tetracycline							
杂交组 ♀ × ♂	配对数 Number of pairs	产卵蚊数 Number of mosquitoes that oviposited	产卵数 Number of eggs	平均产卵数 Mean number of eggs per female	孵化卵数 Number of eggs hatched	未孵化卵数 Number of eggs unhatched	孵化率 (%) Hatching rate
pi × mo*	40	27	3 777	139.89	3 123	654	82.68
pi × mo	60	42	7 044	167.71	6 304	740	89.49
mo × pi	50	12	775	64.58	482	293	62.19
qu × mo*	50	27	4 586	169.85	1 099	3 487	23.96
qu × mo	80	48	6 861	142.94	1 605	5 256	23.39
mo × qu	40	22	1 210	55.00	702	508	58.02
pa × mo	60	36	4 521	125.58	1 007	3 514	22.27
mo × pa	60	27	2 028	75.11	1 083	945	53.40

\* 第 2 代杂交结果 (with \*: F<sub>2</sub>), 其余为第 3 代杂交结果 (without \*: F<sub>3</sub>)

表 3 我国尖音库蚊复合组 4 个亚种实验室种群经四环素处理后第 3、5 代的杂交结果

Table 3 Hybridization among F <sub>3</sub> , F <sub>5</sub> of the 4 subspecies of the <i>Cx. pipiens</i> complex after treatment with tetracycline							
杂交组 ♀ × ♂	配对数 Number of pairs	产卵蚊数 Number of mosquitoes that oviposited	产卵数 Number of eggs	平均产卵数 Mean number of eggs per female	孵化卵数 Number of eggs hatched	未孵化卵数 Number of eggs unhatched	孵化率 (%) Hatching rate
<i>Cx. pipiens pallens</i>							
T × W	50	31	4 865	156.94	3 869	996	79.53
W × T	60	42	9 937	236.60	8 988	949	90.45
T × W*	50	12	1 386	115.50	4	1 382	0.29
W × T*	50	16	3 242	202.63	2 031	1 211	62.65
<i>Cx. pipiens pipiens</i>							
T × W	70	41	6 857	167.24	5 015	1 842	73.14
W × T	70	37	9 600	259.46	545	9 055	5.68
T × W*	50	18	2 548	141.56	2	2 546	0.08
W × T*	60	39	8 708	223.28	612	8 096	7.03
<i>Cx. pipiens quinquefasciatus</i>							
T × W	50	37	5 532	149.51	3 777	1 755	68.28
W × T	50	36	7 522	208.94	6 820	702	90.67
T × W*	60	13	1 662	127.85	0	1 662	0.00
W × T*	50	34	7 292	214.47	5 097	2 195	69.90
<i>Cx. pipiens molestus</i>							
T × W	40	9	455	50.56	388	67	85.27
W × T	40	24	1 292	53.83	930	362	71.98
T × W*	60	15	803	53.53	0	803	0.00
W × T*	60	26	1 792	68.92	912	880	50.89

\* 第 5 代杂交结果 (with \*: F<sub>5</sub>), 其余为第 3 代杂交的结果 (without \*: F<sub>3</sub>); T: 经过四环素处理的种群 (with tetracycline treatment); W: 没有经过四环素处理的种群 (without tetracycline treatment)

处理后的第 5 代与未处理的杂交试验，淡色库蚊、尖音库蚊处理后的雌虫与未处理的雄虫杂交卵的孵化率均很低，分别只有 0.29% 和 0.08%。而致倦库蚊、骚扰库蚊处理后的雌虫与未处理的雄虫杂交卵则完全不孵化，出现了胞质不融合的现象。反交中，卵的孵化率也有降低，特别值得注意的是尖音库蚊的处理雄虫与未处理雌虫杂交卵的孵化率仍仅有 7.03%（表 3）。卵孵化率分布统计，4 个亚种处理的雌虫与未处理的雄虫杂交组合所有卵的孵化率均不超过 10%。而未处理的雌虫与处理的雄虫杂交组合中，淡色库蚊、致倦库蚊和骚扰库蚊大多数卵的孵化率仍较高。但是，在尖音库蚊中大多数卵的孵化率却不超过 10%。在随后的 PCR 检测中，所检测处理的父母本样品中没有出现 *Wolbachia* 的阳性反应。

所做成功的 4 个亚种未经四环素处理以及用四环素处理后第 3 代的单对杂交部分结果与群体杂交试验结果一致。

### 3 讨论

CI 中单向的不融合典型地出现在受 *Wolbachia* 感染的雄性精子与未受感染的卵子受精时，而反之是可融合的。双向的不融合典型地出现在雌雄包含有不同的 *Wolbachia* 株或不同浓度时。本研究发现骚扰库蚊与其他 3 个亚种之间存在有单向的胞质不融合现象。PCR 检测和 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列分析的结果证实在 4 个亚种实验室种群中雌雄个体均有 *Wolbachia* 的感染，并且所感染的 *Wolbachia* 株同属于 B 组中的 *Pip* 组株（宋社吾等，2000，2002）。因而，该复合组中的 CI 现象应该不是由于父母本中包含不同的 *Wolbachia* 株或某一方有感染所引起的。PCR 检测还发现在骚扰库蚊的雌雄个体中可能有另一个 B 组 *Wolbachia* 株的双重感染，这种双重感染有可能是引起该复合组中 CI 的因素之一。四环素处理去除了骚扰库蚊雄虫中另一个 B 组 *Wolbachia* 株的影响，因而杂交卵的孵化率提高。处理后第 5 代与未处理的杂交诱导产生了新的不融合现象，进一步证实我国尖音库蚊复合组 4 个亚种之间蹬 CI 是由于 *Wolbachia* 的感染所引起的。此外，宿主的基因型以及父母本中不同的微生物浓度也有可能影响到这种单向的胞质不融合现象。有关 CI 的机制和影响因素还不清楚，该方面的研究也很活跃，可能会有目前我们还不知道的新机制的出

现。

尖音库蚊在处理杂交中的表现与其他 3 个亚种有所不同。其与骚扰库蚊的不融合杂交在处理后的第 2 代时就已有明显改善，而与未处理的杂交中几乎出现了双向的胞质不融合现象。这可能与宿主基因型对 CI 的表现强度和方向影响有关。但到目前为止，还没有发现一个种内影响 CI 表达的宿主的变种（型），对这一现象还需进一步深入的研究。

### 参 考 文 献 (References)

- Barr A R. 1980. Cytoplasmic incompatibility in natural populations of a mosquito, *Culex pipiens* L. *Nature*, 283: 71–72.
- Boyle L, O'Neill S L, Robertson H M, Karr T L. 1993. Interspecific and intraspecific horizontal transfer of *Wolbachia* in *Drosophila*. *Science*, 260: 1 796–1 799.
- Giordano R, O'Neill S L, Robertson H M. 1995. *Wolbachia* infections and the expression of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila sechellia* and *D. mauritiana*. *Genetics*, 140 (4): 1 307–1 317.
- Gong P, Shen Z R, Li Z H. 2002. *Wolbachia* endosymbionts and their manipulation of reproduction of arthropod hosts. *Acta Entomologica Sinica*, 45 (2): 241–252. [龚鹏, 沈佐锐, 李志红, 2002. *Wolbachia* 属共生细菌及其对节肢动物生殖活动的调控作用. 昆虫学报, 45 (2): 241–252]
- Guillemaud T, Pasteur N, Rousset F. 1997. Contrasting levels of variability between cytoplasmic genomes and incompatibility types in the mosquito *Culex pipiens*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 264: 245–251.
- Knight K L. 1978. Supplement to a Catalog of the Mosquitoes of the World. Thomas Say Foundation. Suppl. to Vol. VI.
- Knight K L, Stone A. 1977. A Catalog of the Mosquitoes of the World. (Diptera: Culicidae). 2nd edition. Thomas Say Foundation. Ent. Soc. Am.
- Laven H. 1951. Crossing experiments with *Culex* strains. *Evolution*, 5: 370–375.
- O'Neill S L, Paterson H E H. 1992. Crossing type variability associated with cytoplasmic incompatibility in Australian populations of the mosquito *Culex quinquefasciatus* Say. *Med. Veterinary Entomol.*, 16: 209–216.
- Sinkins S P, Braig H R, O'Neill S L. 1995. *Wolbachia* superinfections and the expression of cytoplasmic incompatibility. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 261: 325–330.
- Song S W, Zhao T Y, Dong Y D, Jiang S N, Lu B L. 2000. PCR of *wsp* gene of *Wolbachia* in mosquitoes of *Culex pipiens* complex in China. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 7 (2): 96–98. [宋社吾, 赵彤言, 董言德, 蒋书楠, 陆宝麟, 2000. *Wolbachia* 的 *wsp* 基因片段在我国尖音库蚊复合组蚊虫中的 PCR 扩增. 寄生虫与医学昆虫学报, 7 (2): 96–98]
- Song S W, Zhao T Y, Dong Y D, Jiang S N, Lu B L. 2002. Sequencing and sequence analysis of the *wsp* gene of *Wolbachia* in Chinese mosquitoes. *Acta Entomologica Sinica*, 45 (5): 571–577. [宋社吾, 赵彤言, 董言德, 蒋书楠, 陆宝麟, 2002. 我国蚊虫体内感染

- 的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列测定与分析. 昆虫学报, 45 (5): 571 – 577.]
- Werren J H, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.*, 42: 587 – 609.
- Yen J H, Barr A R, 1971. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. *Nature*, 232: 657 – 658.
- Zhao T Y, Lu B L, 1993. A new record of *Culex pipiens molestus* in China and studies of autogeny and systematics. *Chin. J. Vector Bio. Control*, 4 (4): 241 – 243. [赵彤言, 陆宝麟, 1993. 骚扰库蚊在我国新记录及其自育性和分类学的研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 4 (4): 241 – 243.]
- Zhao T Y, Dong Y D, Zhu L H, Lu B L, 1998. Hybridization between *Culex pipiens molestus* and other three members of *Culex pipiens* complex in China. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 5 (1): 41 – 44. [赵彤言, 董言德, 朱礼华, 陆宝麟, 1998. 骚扰库蚊与尖音库蚊复合组其它亚种杂交的研究. 寄生虫与医学昆虫学报, 5 (1): 41 – 44.]
- Zhou W G, Rousset F, O'Neill S L, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 265: 509 – 515.